مقاله تحقیقی

کاربرد رنگدانه باکتریایی ویولاسئین در رنگرزی الیاف پنبه

آنیتا خنافری [۱،*]، ساقی کامرانی ترکستانی [۱]، صدیقه مهرابیان [۱]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

***مسؤول مکاتبات:** آنیتا خنافری، تهران، میدان هروی، مکران جنوبی، بوستان دهم، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه میکروبیولوژی، پست الکترونیکی: khanafari_a@yahoo.com

محل انجام تحقیق: آزمایشگاه‌های تحقیقاتی میکروبیولوژی و شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۲۳

چکیده

امروزه رنگدانه‌های میکروبی بعلت سازگاری با محیط، بیش از رنگ‌های شیمیایی جهت رنگرزی منسوجات مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از انجام این تحقیق استخراج، بهینه‌سازی و بررسی ثبات نوری و شستشویی رنگدانه ویولاسئین از باکتری *Janthinobacterium lividum* جهت استفاده در صنایع نساجی بوده است. رنگدانه ویولاسئین پس از کشت باکتری با استفاده از حلال‌های آلی استخراج گردید. نمودار تولید رنگدانه بر حسب الگوی رشد و بهینه‌سازی تولید در شرایط مختلف محیطی تعیین گردید. ماهیت ضدمیکروبی، ثبات نوری و شستشویی بر الیاف پنبه‌ای بررسی شد. نتایج بهترین حلال، دما، منبع معدنی و نوع محیط کشت جهت استخراج رنگدانه را به ترتیب اتانل، دمای ۲۵ $^{\circ}C$، $MgSO_4$ و محیط کشت Mueller Hinton Broth به میزان ۱/۳ gL^{-1} نشان داد. اثر ضدمیکروبی رنگدانه روی باکتری‌های اسپوردار با قطر هاله عدم رشد ۳۸ میلی‌متر محاسبه شد. ثبات شستشویی ۲/۵ و ثبات نوری ۶ برای رنگدانه فوق تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: *Janthinobacterium lividum*، ویولاسئین، فعالیت ضدمیکروبی، الیاف پنبه‌ای

مقدمه

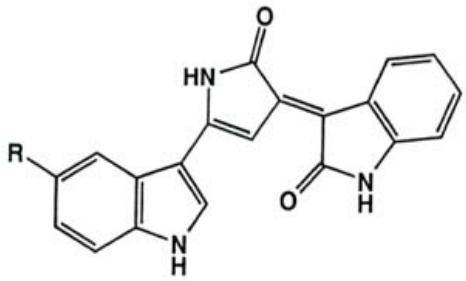
کاربرد رنگ‌های طبیعی در رنگرزی الیافی نظیر پشم، پنبه و ابریشم قدمتی طولانی دارد. استفاده از این رنگ‌ها در رنگرزی منسوجات، بعد از کشف رنگ‌های مصنوعی در سال ۱۸۵۶ به سرعت رو به کاهش گذاشت و از سال ۱۹۰۰ به بعد به معنای واقعی، دیگر مورد استفاده قرار نگرفت. اگرچه هنوز رنگ‌های طبیعی به دلیل طیف رنگی مطلوبی که ایجاد می‌کنند، دارای ارزش‌اند، اما در عصر حاضر الیاف عمدتاً به وسیله رنگ‌های مصنوعی، رنگرزی می‌شوند (۱).

برای رنگرزی الیاف، علاوه بر رنگ‌ها می‌توان از رنگدانه‌ها نیز استفاده نمود. رنگ‌ها غالباً توسط ماده مورد رنگرزی جذب می‌شوند، در حالی که رنگدانه‌ها فقط سطح جسم را رنگین می‌کنند. اغلب رنگدانه‌ها در آب محلول نیستند (۲). منابع متداول رنگدانه‌های طبیعی را، سنگ‌های معدنی، حشرات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها تشکیل می‌دهند. تولید رنگدانه‌های زیستی از باکتری‌ها، به دلیل سرعت رشد بالا و

قابلیت تولید انبوه یک روش مناسب است (۳). رنگدانه‌های باکتریایی انواع متنوعی نظیر بتاکاروتن، فیکوسیانین، پرودیجیوسین و ویولاسئین را شامل می‌شوند. رنگدانه ویولاسئین، مشتق ایندولی به رنگ آبی- بنفش است که تولید کنندگان آن در سه جنس باکتریایی کروموباکتریوم (*Chromobacterium* spp.)، ژانتینوباکتریوم (*Janthinobacterium* spp.) و یدوباکتر (*Iodobacter* spp.) قرار می‌گیرند (تصویر ۱) (۴،۵). رنگدانه فوق ترجیحاً زمانی تولید می‌شوند که منبع کربن محیط کشت، گلیسرول باشد (۶).

Janthinobacterium spp. که در گذشته *Chromobacterium violaceum* نامیده می‌شد، کوکوباسیل گرم منفی و هوازی است. این باکتری، فاقد بیماری‌زایی است و تولید ویولاسئین در آن، موجب مقاومت به بنزیل پنی‌سیلین می‌شود. زیستگاه طبیعی آن، آب و خاک است، ولی به کرات، از نخ ابریشم نیز جدا شده است (۷،۸).

خواص باکتریوسایدی (۹،۱۰)، ضد توموری (۱۰)، ضدانگلی (۱۰،۱۱)، فعالیت‌های ضدویروسی و ضدقارچی ویولاسئین (۱۲) در تحقیقات مختلف گزارش شده است. با توجه به طیف اثر ضدقارچی این رنگدانه علیه قارچ‌های فیتوپاتوژنیک نظیر *Rosellinia necatrix* که باعث فساد ریشه گیاه توت سفید می‌شود، کاندید مناسبی برای تهیه قارچ-کش‌های بیولوژیک به شمار می‌آید. این رنگدانه به صورت مخلوطی از ویولاسئین و دیوکسی ویولاسئین از باکتری استخراج می‌گردد. از آن نه تنها برای رنگرزی الیاف طبیعی، بلکه برای الیاف مصنوعی نظیر نایلون و وینیلون نیز استفاده می‌شود و معمولاً طیف رنگی مناسبی ایجاد می‌کند (۱۳). اخیراً مطالعاتی در جهت تعیین شرایط بهتر کشت برای تولید متابولیت-های آن‌ها که از لحاظ دارویی و بیوتکنولوژی سودمند باشد، صورت گرفته است (۱۴).



1; R=OH, Violacein
2; R=H, Deoxyviolacein

تصویر ۱ - ساختار رنگدانه ویولاسئین.

با توجه به اهمیت رنگدانه‌های زیستی در کاهش آلودگی‌های زیست محیطی، هدف از انجام این تحقیق، جداسازی، استخراج و بهینه‌سازی تولید رنگدانه ویولاسئین از باکتری *Janthinobacterium lividum* به منظور استفاده در صنایع نساجی بوده است.

مواد و روش‌ها

کلیه مراحل انجام تحقیق در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی میکروبیولوژی و شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال انجام گرفته است.

تهیه سوش باکتریایی

باکتری *Janthinobacterium lividum* سویه (DSM1522T) با واسطه سازمان پژوهش-

های علمی و صنعتی ایران از کلکسیون باکتریایی DSMZ آلمان خریداری شد.

کشت و تائید باکتری *J. lividum*

باکتری فوق در محیط پایه Nutrient Agar (پپتون ۵ گرم، عصاره گوشت ۱ گرم، عصاره مخمر ۲ گرم، کلرید سدیم ۵ گرم، آگار ۱۵ گرم، آب مقطر ۱ لیتر) و Nutrient Broth (فاقد آگار) تلقیح شد و در دمای ۲۵ $^{\circ}C$ به مدت یک هفته گرمخانه‌گذاری گردید. سپس خواص ماکروسکوپی و میکروسکوپی و روش‌های رنگ آمیزی و بررسی حلالیت رنگدانه در آب، به روش‌های متداول میکروب‌شناسی، مورد بررسی قرار گرفت (۱۵).

تهیه کشت تلقیح از باکتری *Janthinobacterium lividum*

ابتدا از باکتری *J. lividum* در محیط کشت Nutrient Broth (به میزان یک لوپ در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت)، کشت تهیه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ $^{\circ}C$ گرمخانه‌گذاری گردید و میزان جذب نمونه مورد نظر، در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی ۱-۰/۸ تنظیم شد که معادل $10^{8} \times 5$ CFU/ml می‌باشد (۱۶).

کشت و شرایط استخراج رنگدانه ویولاسئین

از کشت تلقیح باکتری *J. lividum* به نسبت ۳ درصد به محیط کشت Nutrient broth اضافه گردید و پس از یک هفته گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵ $^{\circ}C$، جهت استخراج رنگدانه، محیط کشت فوق به وسیله دستگاه سانتریفیوژ مدل Sigma 301 در دور ۱۰۰۲۶ ×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس رسوب باکتریایی، جداسازی و با آب مقطر، شستشو داده شد. به منظور استخراج و بررسی حلالیت رنگدانه، روی رسوب حاصل به طور جداگانه، حلال‌های مختلف نظیر اتانول، متانول، استون، ایزوبوتانول و آب افزوده شد. میزان حلالیت رنگدانه در حلال‌های مختلف پس از مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد، مورد بررسی قرار گرفت. سپس جهت استخراج رنگدانه از توده سلولی باکتری، بار دیگر در دور ۱۰۰۲۶ ×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید (۱۸-۱۶).

تایید رنگدانه ویولاسئین استخراج شده

تعیین لاندای ماکزیمم

بیشینه جذب رنگدانه استخراج شده در محدوده طول موج ۹۰۰-۲۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UVIKON تعیین گردید (۳).

طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

طیف‌سنجی مادون قرمز رنگدانه استخراج شده با استفاده از دستگاه FTIR مدل Thermo Nicolet, 870FT- IR به روش Rettori و همکاران تعیین گردید و با نمونه استاندارد مقایسه شد (۱۹).

تعیین منحنی رشد باکتری

از کشت تلقیح باکتری *J. lividum* به نسبت ۳ درصد به محیط کشت Nutrient Broth افزوده شد. نمونه در دمای ۲۵ $^{\circ}C$ گرمخانه‌گذاری گردید. سپس به فواصل زمانی دو ساعته به مدت ۸ شبانه روز، جذب نوری نمونه در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید (۱۶،۲۰).

بررسی خواص ضدمیکروبی ویولاسئین

روش دیسک‌گذاری

از عصاره اتانولی ۲۴ ساعته رنگدانه ویولاسئین استخراج شده با استفاده از دیسک‌های بلانک (شرکت پادتن طب) دیسک ضدمیکروبی تهیه گردید. پس از تعیین میزان عصاره جذب شده روی هر دیسک (با کسر وزن دیسک حاوی عصاره از وزن دیسک فاقد عصاره توسط ترازوی دیجیتال)، از کشت تلقیح باکتری‌های باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلیس به عنوان نمونه اسپوردار، اشریشیا کلی بعنوان شاخص گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان شاخص گرم مثبت، به روش آنتی‌بیوگرام روی محیط کشت Mueller Hinton Agar

کشت تهیه گردید. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شدند. پس از آن، ظهور یا عدم ظهور هاله عدم رشد، مورد بررسی قرار گرفت (۱۸).

آزمون انتشار در آگار به روش چاهک (Well Diffusion Agar)

به منظور بررسی اثر ضدمیکروبی رنگدانه ویولاسئین به روش چاهک‌گذاری، پس از تهیه محیط کشت Mueller Hinton Agar، یک میلی‌لیتر از کشت تلقیح چهار باکتری مورد نظر (معادل ۵×۱۰^{۸} CFU باکتری) به طور جداگانه به محیط‌های کشت افزوده شد و به روش آنتی‌بیوگرام، کشت متراکم تهیه گردید. با استفاده از دستگاه پانچ در شرایط سترون در زیر هود میکروبیولوژی، چاهک-هایی به قطر ۵ میلی‌متر با رعایت فاصله مناسب از یکدیگر روی محیط کشت ایجاد شد. در هر چاهک، میزان ۴۰ میکرولیتر از عصاره‌های اتانلی، متانلی، استونی، ایزوبوتانلی و آبی ریخته شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد، بررسی شد (۲۱).

بهینه‌سازی شرایط جهت افزایش تولید رنگدانه

نوع محیط کشت

از محیط‌های کشت Mueller-Hinton Broth (کازئین هیدرولیز شده ۱۷/۵ گرم، عصاره مخمر ۲ گرم، نشاسته ۱/۵ گرم، آب مقطر یک لیتر) و Brain Heart Infusion Broth (D-گلوکز ۲ گرم، کلرید سدیم ۵ گرم، دی‌سدیم هیدروژن فسفات ۲/۵ گرم، عصاره مغز و قلب پپتونه ۲۷/۵ گرم، آب مقطر یک لیتر) جهت مقایسه شدت و میزان رنگدانه تولید شده با محیط کشت نوترینت براث به عنوان محیط کشت اولیه‌ای که در این تحقیق جهت بررسی تولید رنگدانه باکتریایی استفاده گردید، مقایسه شد. کشت تلقیح باکتری فوق به نسبت ۳ درصد به محیط کشت Mueller Hinton Broth و Brain Heart Infusion Broth براث افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ شبانه روز در دمای ۲۵°C گرمخانه-گذاری شد و رنگدانه ویولاسئین مطابق روش استخراج با بهترین حلال، جداسازی و مقایسه گردید (۱۶،۱۷).

نوع منبع ازت معدنی و آلی

محیط Mueller Hinton Broth با افزودن عصاره مخمر به عنوان منبع ازت آلی و KNO_3 به عنوان منبع ازت معدنی به نسبت ۱ درصد تهیه گردید. سپس کشت تلقیح باکتری فوق به نسبت ۳ درصد به آن افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ شبانه روز در دمای ۲۵°C گرمخانه‌گذاری و رنگدانه ویولاسئین، مطابق روش استخراج با بهترین حلال، جداسازی و مقایسه گردید (۱۶،۱۷).

نمک معدنی

محیط کشت Mueller Hinton Broth با افزودن $MgSO_4$ بعنوان نمک معدنی به نسبت ۱ درصد تهیه گردید. سپس کشت تلقیح باکتری فوق به نسبت ۳ درصد به آن افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ شبانه روز در دمای ۲۵°C گرمخانه‌گذاری و رنگدانه ویولاسئین، مطابق روش استخراج با بهترین حلال، جداسازی و مقایسه گردید (۱۶،۱۷).

منبع کربن

محیط کشت Mueller Hinton Broth با افزودن قندهای گلوکز و ساکارز به عنوان منبع کربن به نسبت ۱ درصد تهیه گردید. سپس کشت تلقیح باکتری فوق به نسبت ۳ درصد به آن افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ شبانه روز در دمای ۲۵°C گرمخانه‌گذاری و رنگدانه ویولاسئین، مطابق روش استخراج با بهترین حلال، جداسازی و مقایسه گردید (۱۷،۱۶).

همزدن محیط کشت

کشت تلقیح باکتری *J. lividum* به نسبت ۳ درصد به محیط کشت Mueller Hinton Broth افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ شبانه روز در دمای ۲۵°C بدون همزن و با شرایط همزدن در دور rpm

۱۲۰گرمخانه‌گذاری و رنگدانه ویولاسئین، مطابق روش استخراج با بهترین حلال، جداسازی و مقایسه گردید (۱۶،۱۷).

دمای محیط کشت

به محیط Mueller Hinton Broth، کشت تلقیح باکتری فوق به نسبت ۳ درصد افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ شبانه‌روز در سه دمای ۳۷°C، ۲۵ و ۱۰ گرمخانه‌گذاری و رنگدانه ویولاسئین، مطابق روش استخراج با بهترین حلال، جداسازی و مقایسه گردید (۱۶).

رنگرزی پارچه پنبه‌ای

قبل از رنگرزی، پارچه پنبه‌ای در حمام حاوی شوینده غیریونی (Fluidol W100) با غلظت یک گرم بر لیتر در دمای ۶۰°C به مدت ۳۰ دقیقه با L.R.= ۵۰:۱ (حجم حمام رنگرزی به وزن کالا) شستشو داده شد. رنگرزی با رنگدانه ویولاسئین حاصل از استخراج بوسیله حلال اتانلی، به صورت مستقیم به کمک نمک NaCl در دمای ۶۰°C به مدت ۶۰ دقیقه انجام گرفت. پس از خروج از حمام رنگرزی، نمونه به مدت ۲۰ دقیقه به وسیله شوینده غیریونی در ۵۰°C شستشو داده شد (۲۳،۲۴).

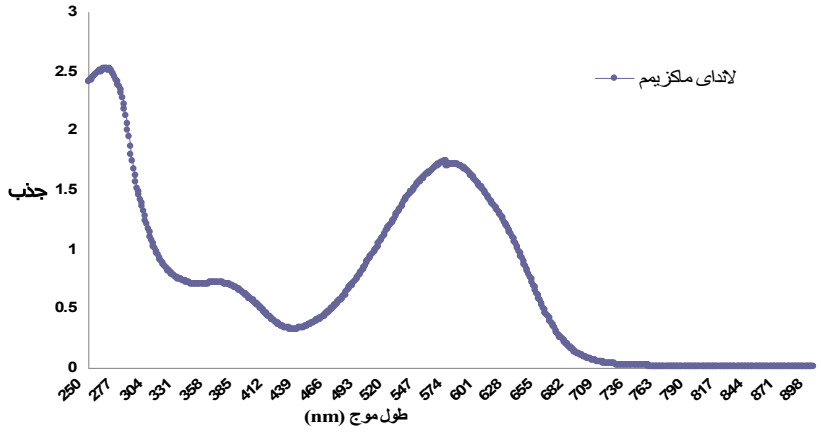
بررسی ثبات رنگدانه

ثبات شستشویی پارچه پنبه‌ای رنگرزی شده، مطابق استاندارد ISO 105 C2S انجام شد. پارامترهای شستشو به صورت دمای شستشو ۶۰°C، مدت زمان ۶۰ دقیقه با gL^{-1} ۴ دترجنت، gL^{-1} ۱ پربورات و gL^{-1} ۱ کربنات سدیم تنظیم گردید. ثبات نوری پارچه رنگرزی شده مطابق استاندارد ISO 105/B02 به وسیله دستگاه ثبات نوری دارای لامپ زنون AUTONICS-FS4E با رطوبت ۱۵-۱۰ درصد در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (۲۴).

نتایج

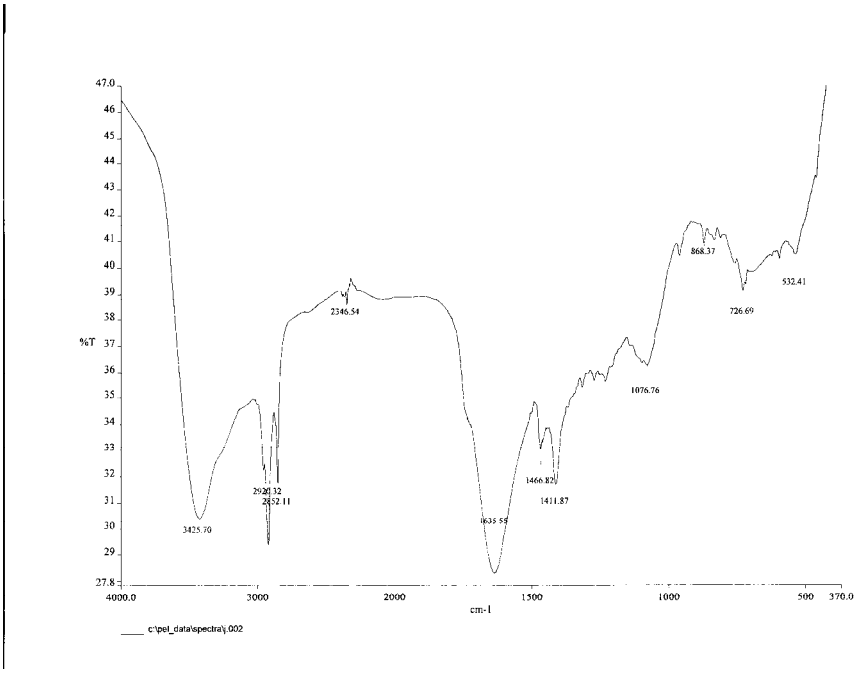
نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که رنگدانه استخراج شده ویولاسئین، دارای حلالیت بسیار ناچیزی در آب بوده، به طوری که می‌توان از آن چشم‌پوشی نمود. بیشترین میزان حلالیت در حلال‌های آلی نظیر اتانل مشاهده گردید. حلال‌های آلی دیگر نظیر استون و ایزوبوتانل، تاثیر بسیار اندکی در استخراج رنگدانه ویولاسئین نشان دادند.

بیشینه جذب رنگدانه استخراج شده در محدوده طول موج ۹۰۰-۲۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش، ۵۷۷ نانومتر تعیین گردید (نمودار ۱).



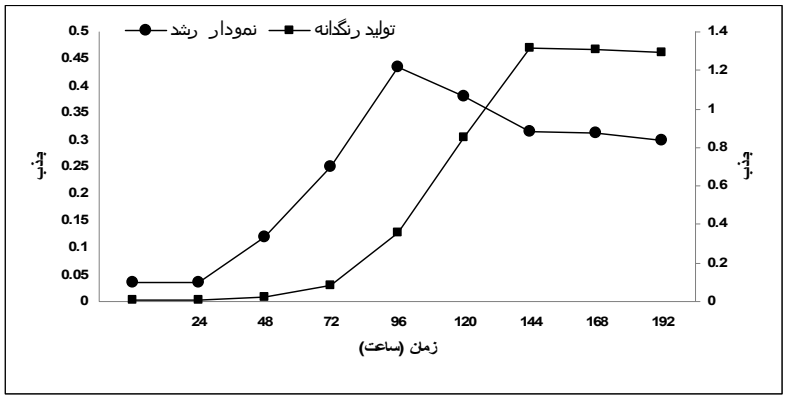
نمودار ۱ - طیف جذبی اسپکتروفتومتری ماورای بنفش رنگدانه ویولاسئین. بیشینه جذب در طول موج ۵۷۷ نانومتر.

طیف مادون قرمز رنگدانه استخراج شده با استفاده از دستگاه FTIR در نمودار ۲ نشان داده شده است. طیف جذبی حاصل، حضور باندهای O-H ، C-H، C=C و C-O را در ساختار رنگدانه نشان می‌دهد.



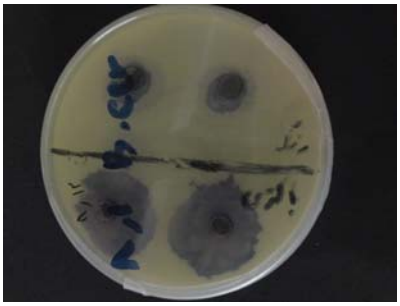
نمودار ۲ - نمودار طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) رنگدانه ویولاسئین. حضور باندهای O-H، C-H ، C=C و C-O به ترتیب در موقعیت‌های cm^{-1} ۳۴۲۵/۷۰، ۸۶۸/۳۷، ۷۲۶/۶۹، ۱۶۳۵/۵۵ و ۱۰۷۶/۷۶.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیشترین میزان رنگدانه بر حسب منحنی رشد باکتری در اواخر فاز رکود در طول ۱۴۴ ساعت تولید می‌گردد (نمودار ۳). در این تحقیق، بیشترین میزان تولید رنگدانه ویولاسئین بر حسب توده سلولی باکتری در شرایط متعارف گرمخانه‌گذاری در دمای $25^{\circ}C$ به مدت یک هفته، $1/3\ gL^{-1}$ محاسبه گردید.



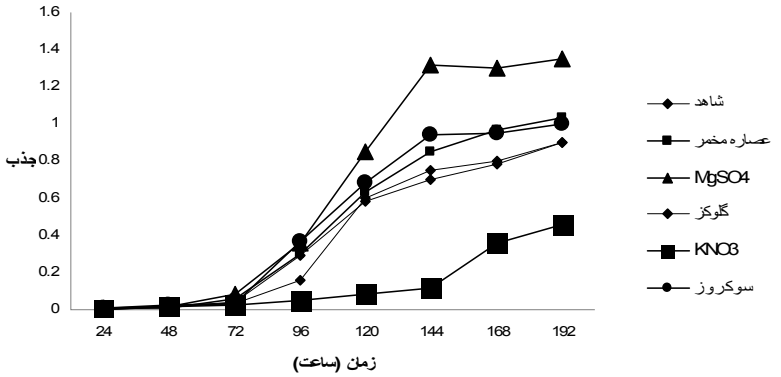
نمودار ۳ - بیشینه تولید رنگدانه ویولاسئین بر اساس منحنی رشد باکتری در طول یک هفته گرمخانه‌گذاری در دمای $25^{\circ}C$، بیشینه میزان تولید رنگدانه در فاز رکود.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که رنگدانه ویولاسئین استخراج شده، دارای خاصیت ضدمیکروبی است. این رنگدانه بیشترین اثر ممانعتی رشد را روی باکتری‌های اسپوردار، بالاخص *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis* با قطر هاله عدم رشد ۳۸ میلی‌متر نشان داد (تصویر ۲).



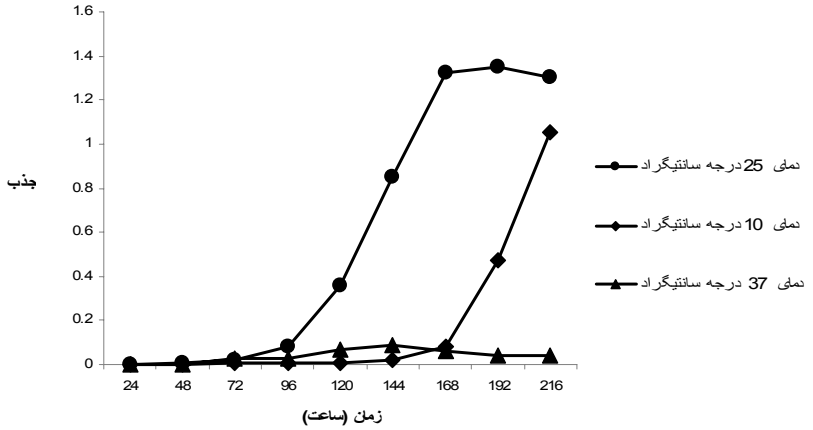
تصویر ۲ - اثر ضدمیکروبی رنگدانه ویولاسئین به روش چاهک (تصویر چپ) و دیسک‌گذاری (تصویر راست) بر باکتری *Bacillus cereus*. بیشترین اثر ضدمیکروبی این رنگدانه بر باکتری‌های اسپوردار، بخصوص باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتلیس مشاهده گردید.

در بهینه‌سازی شرایط تولید رنگدانه، منابع کربن نسبت به نمونه شاهد، اثر افزایشی محسوسی روی میزان تولید رنگدانه نشان نداد. در حالی که، غلظت یک درصد $MgSO_4$ به عنوان منبع نمک معدنی، تولید رنگدانه را از gL^{-1} ۰/۹ به gL^{-1} ۱/۳ افزایش داد (نمودار ۴) .



نمودار ۴ - تاثیر منابع کربن، ازت و معدنی بر افزایش تولید رنگدانه ویولاسئین. بیشترین و کمترین تاثیر در تولید رنگدانه ویولاسئین به ترتیب با افزودن سولفات منیزیم و ساکارز به محیط کشت مشاهده گردید.

تولید رنگدانه به شدت متاثر از دما بوده، به طوری که در نمونه کشت داده شده در شرایط گرمخانه‌گذاری $37^{\circ}C$، رنگدانه‌ای مشاهده نگردید (نمودار ۵).



نمودار ۵ - اثر دما بر تولید رنگدانه ویولاسئین، بهترین دما برای تولید رنگدانه $25^{\circ}C$ است.

رنگرزی الیاف پنبه‌ای با رنگدانه ویولاسئین استخراج شده، به روش مستقیم انجام گرفت. ثبات شستشویی نمونه نسبتاً مناسب (۲/۵) و ثبات نوری آن مطلوب (۶) تعیین گردید.

بحث

رنگدانه‌ها به صورت گسترده‌ای در غذا، پوشاک، رنگرزی، مواد آرایشی، دارویی و پلاستیک‌ها به کار گرفته می‌شوند. در محصولات غذایی، آرایشی، دارویی و نساجی به دلیل اهمیت آن‌ها در مصرف و مشکلاتی که رنگ‌دهنده‌های شیمیایی ایجاد می‌کنند، تحقیقات فراوانی برای دستیابی به محصولات مطمئن و رنگدانه‌های طبیعی از منابع طبیعی صورت گرفته است. مدافعان صنایع دستی معتقدند که رنگ‌های طبیعی از لحاظ کیفی دارای جایگاه بالاتری بوده و به دلیل طیف رنگی گسترده‌ای که می‌توانند ایجاد کنند، چشم‌نوازند. از سوی دیگر، سازگاری این دسته از رنگ‌ها با طبیعت و قابلیت تجزیه‌پذیری آن‌ها دارای اهمیت است. رنگ‌های طبیعی به دلیل منابع غنی و متنوعی که دارند و هم چنین توانایی تولید انبوه آن‌ها به آسانی، مد نظر قرار دارند (۲۵). رنگدانه‌های میکروبی به دلیل سرعت رشد بالای میکروب‌ها و امکان تولید انبوه این رنگدانه‌ها مهم می‌باشند (۲۶).

در این تحقیق، استخراج رنگدانه ویولاسئین از باکتری *Janthinobacterium lividum* جهت بررسی خواص آن و امکان استفاده در صنایع نساجی، مورد بررسی قرار گرفت. بهترین حلال جهت استخراج این رنگدانه، اتانل تعیین گردید.

استفاده از حلال‌های آلی دیگر جهت استخراج رنگدانه ویولاسئین گزارش گردیده است. Blosser و Gray در سال ۲۰۰۰، استخراج این رنگدانه را به وسیله بوتانل گزارش کردند (۲۷). در حالی‌که Rettori و همکاران در سال ۱۹۹۸، بهترین حلال جهت جداسازی ویولاسئین را اتانل گزارش نموده‌اند (۱۹).

برای تایید نوع رنگدانه استخراج شده، روش‌های بیشینه جذب و FTIR انجام گرفت. بیشینه جذب رنگدانه استخراج شده در محدوده طول موج ۹۰۰-۲۰۰ نانومتر، ۵۷۷ نانومتر تعیین گردید که این مقدار با تحقیقات دانشمندان دیگر نظیر Matz و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Helms و همکاران در سال ۲۰۰۹، که بیشنه جذب رنگدانه فوق را ۵۸۵ نانومتر گزارش کرده‌اند، قابل مقایسه است (۷،۲۸).

نتایج طیف مادون قرمز رنگدانه استخراج شده با استفاده از دستگاه FTIR، به حضور باندهای O-H، C-H، C=C و C-O در ساختار رنگدانه اشاره دارد.

در این راستا Laatsch و همکاران در سال ۱۹۸۴ و Riveros و همکاران در سال ۱۹۹۸ حضور باندهای کششی C=C و C=O در موقعیت‌های $1680\ cm^{-1}$، $1655\ cm^{-1}$ و $1610\ cm^{-1}$ را در نمودار FTIR ویولاسئین تایید نمودند (۲۹،۳۰).

بیشترین میزان تولید رنگدانه ویولاسئین بر حسب توده سلولی باکتری در شرایط متعارف گرمخانه‌گذاری در دمای $^{\circ}C$ ۲۵ به مدت یک هفته gL^{-1} ۱/۳ محاسبه گردید.

Rettori و همکاران در سال ۱۹۹۸، بیشترین میزان تولید رنگدانه ویولاسئین از باکتری *Chromobacterium violaceum* سویه ۳۴۹۶ CCT را در بهترین شرایط، gL^{-1} ۱ گزارش کرده‌اند (۱۹). Lu و همکاران در سال ۲۰۰۹، مقدار رنگدانه ویولاسئین استخراج شده از *Janthinobacterium lividum* سویه XT1 (CGMCC۱۱۹۴) را gL^{-1} ۰/۸ تعیین نموده‌اند (۳).

نتایج حاصل از این تحقیق، بیشترین اثر ممانعتی رشد را روی باکتری‌های اسپوردار، بالاخص *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis* با قطر هاله عدم رشد ۳۸ میلی‌متر نشان داد.

گزارش‌هایی مبنی بر اثر ضدمیکروبی این رنگدانه توسط محققین مختلفی اعلام شده است. پیش از این Nakamura و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز این اثر را بر *Bacillus subtilis* گزارش کرده‌اند (۳۱). همچنین، Shirata و همکاران در سال ۲۰۰۰، اثر ضدقارچی این رنگدانه را روی قارچ *Rosellinia necatrix* مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۳).

آزمون‌های ثبات شستشویی و نوری نمونه الیاف پنبه‌ای پس از رنگ‌آمیزی با رنگدانه ویولاسئین استخراج شده در حد مناسب (۲/۵) و مطلوب (۶) تعیین گردید که این نتایج با برخی مطالعات محققان در این زمینه همسویی دارد. Shirata و همکاران در سال ۲۰۰۰ میلادی، ثبات شستشویی این رنگدانه را محاسبه نمودند (۱۳). Sawipak و Wichai در سال ۲۰۰۶، با به کارگیری روش‌های Scouring و Mercerization پیش از رنگرزی پارچه، ثبات نوری و ثبات شستشویی را برای ویولاسئین گزارش کردند (۱).

با توجه به رشد سریع باکتری‌ها و اثرات ضدمیکروبی رنگدانه استخراج شده و امکان تولید انبوه آن در مدت زمان کوتاه، می‌توان از این رنگدانه در صنایع نساجی بهره جست.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی واحد و مسئولان محترم دانشکده شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال جهت فراهم آوردن امکانات پژوهشی برای انجام این تحقیق ابراز می-دارند.

منابع مورد استفاده

1. Sawipak, S., Wichai, S., 2006. The study of bacteria producing bluish-purple pigment and use for cotton dyeing. Proceeding in Naresuan Research 2: 35-38.
2. Mirshokrai, S. A., Shimi, A., 2006. Organic chemistry III, payam e Noor University Publisher (Persian).
3. Lu, Y., Wang, L., Xue, Y., Zhang, C., Xing, X., Lou, K., Zhang, Z., Li, Y., Zhang, G., Bi, J., Su, Z., 2009. Production of violet pigment by a newly isolated psychrotrophic bacterium from a glacier in Xinjiang, China. Biochemical Engineering Journal 43: 135–141.
4. Moss, M., 2002. Bacterial Pigments. Micobiologist 3: 10-12.
5. Gaston, A., Ejiofor, A, Johnson, T., 2003. Violacein and the role it plays in quorum sensing in *Chromobacterium violaceum*, 4th Annual NASA Research Symposium.
6. Pantanella, F., Berlutti, F., Passariello, C., Sarli, S., Morea, C., Schippa, S., 2006. Violacein and biofilm production in *Janthinobacterium lividum*. J Appl Microbiol 102: 992–999.
7. Matz, C., Deines, P., Boenigk, J., Arndt, H., Eberl, L., Kjelleberg S., Jürgens, K., 2004. Impact of violacein-producing bacteria on survival and feeding of *Bacterivorous Nanoflagellates*. Appl Environ Microbiol 70: 1593-9.
8. Ponte, R., Jenkins, S. G., 1992. Fatal *Chromobacterium violaceum* infections associated with exposure to stagnant

waters. The Pediatric Infectious Disease Journal 11: 583-586.
9. Lichstein, H. C., Van de Sand, V. F., 1945. Violacein, an antibiotic pigment produced by *Chromobacterium violaceum*. Journal of Infectious Diseases 76: 47-51.
10. Duraân, N., Erazo, S., Campos, V., 1983. Bacterial chemistry-II: antimicrobial photoproduct from pigment of *Chromobacterium violaceum.* Anais da Academia Brasileira de Cieâncias 55: 231-234.
11. Caldas, L. R., Leitaâo, A. A. C., Santos, S. M., Tyrrell, R. M., 1987. Preliminary experiments on the photobiological properties of violacein. In Proceedings of International Symposium on Current Topics in Radiology and Photobiology, ed Tyrrell, R. M.: 121 -126.
12. May, G., Brummer, B., Ott, H., 1991. Treatment of prophylaxis of polio and herpes virus infections comprises admin of 3-(1, 2-dihydro-5-(5-hydroxy-1H- indol-3-yl)-2-oxo-3H-pyrrole-3-ylidene)-1, 3-dihydro-2H-indol-2-one. Ger OffenDE 3935066, 25 April.
13. Shirata, A., Tsukamoto, T., Yasui. H., Hata, T., Hayasaka, S., Kojima A., Katqo, H., 2000. Isolation of bacteria producing bluish-purple pigment and use for dyeing. JARQ 34: 131-140.
14. Tabor-Godwin, J., Stuart, R., León Zayas, R. I., Rajakuberan, C., 2009. What you didn't know about *Janthinobacterium.* University of California at San Diego/San Diego State University Integrative Microbiology graduate course.
15. Willey, J. M., Sherwood, L. M., Woolverton, C. J., 2009. Prescott's Principles of Microbiology, McGraw- Hill companies, Higher Education.
16. Khanafari, A., Hosseini, F., 1998. Practical microbiology with biochemical function and colored Atlas. Poorsina Publication.
17. Nowroosi, J., 2003. Bacteriology. 2th ed., IRAN, Hayan publication, pp: 121 (Persian).
18. Baron, J. E., 1992. Finegold SM., Diagnostic microbiology, Bailey & Scott's, pp. 30.
19. Rettori D., Duraân, N., 1998. Production, extraction and purification of violacein: an antibiotic pigment produced by *Chromobacterium violaceum.* World Journal of Microbiology and Biotechnology 14:685-688.
20. Kandler, O., Nobert Bergeys, W., 1989. Mannual of systematic Bacteriology, 2nd Edition, Volume 3, Published by Springer, New York.
21. Skoog, D. A, Leary, J. J., 1992. Principles of instrumental analysis. 4th ed., Harcourt Brace: Orlando, FL, p. 129–131.
22. Hamlin, V., 2006. How to dye cotton fabric. Amazon publisher.
23. Sadeghi-Kiakhani, M., Gharanjig, K., Arami, M., Mahmoodi, N. M., Mokhtari, J., 2009. The dyeing of wool with monoazo disperses dyes based on naphthalimide containing butyric acid, Journal of Color Science and Technology, 3: 9-15.
24. Wojciechowski, K., Szadowski, J., 1991. Spectrophotometric investigation and ppp-Mo calculations of some phenylazophthalimide dyes. Dyes Pigments 16: 35-56.
25. Cho, Y. J., Park, J. P., Hwang, H. J., Kim, S. W., Choi, J. W., Yun, J. W., 2002. Production of red pigment by submerged culture of *Paecilomyces sinclairii.* Letters in Applied Microbiology 35: 195–202.
26. Ugulu, I., Baslar, S., Dogan, Y., Aydin, H., 2009. The determination of colour intensity of *Rubia tinctorum* and *Chrozophora tinctoria* distributed in western anatolia., XI. Anniversary Scientific Conference. "Biology-Traditions and Challenges", May 27-29, Sofia-Bulgaria.
27. Blosser, R. S., Gray, K. M., 2000. Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers. J Microbiol Methods 40: 47-55.
28. Helms, D., Helms, C., Kosinski, R., 2009. Using the spectrophotometer: separate from biology in the laboratory 3e, (screen 16).
29. Laatsch, H., Thomson, T. H., Cox, P. J., 1984. Spectroscopic properties of violacein and related compounds: crystal structure of tetramethylviolacein. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions II: 1331-1339.
30. Riveros, R., Haun, M., Campos, V., Duraân, N., 1988. Bacterial chemistry-IV. Complete characterization of violacein: an antibiotic and trypanocide pigment from *Chromobacterium violaceum*. Arquivos de Biology Tecnologia (Brazil) 31: 475-487.
31. Nakamura, Y., Asada, C., Sawada, T., 2003. Production of antimicrobial violet pigment by psychrothrophic bacterium RT102 strain. Biotechnology and Bioprocess Engineering 8: 37-40.